

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. F. P. Gall

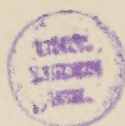
**Pankreas-Transplantation bei der
diabetischen Ratte mit und ohne Okklusion
des Pankreasganges –
Langzeitbeobachtungen zum Verhalten
von Glucose, Insulin und Glucagon**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Horst Roder
aus Nürnberg

1984

1984 # 88



Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen-Nürnberg

Direktor: Professor Dr. med. F. P. Gall

**Pankreas-Transplantation bei der
diabetischen Ratte mit und ohne Okklusion
des Pankreasganges –
Langzeitbeobachtungen zum Verhalten
von Glucose, Insulin und Glucagon**

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von
Horst Roder
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. F. Wolf
Referent: Priv.-Doz. Dr. R. Meister
Korreferent: Prof. Dr. F.P. Gall

Tag der mündlichen Prüfung: 06.02.1984

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung
2. Material und Methoden
 - 2.1. Versuchstiere, Haltung und Vorbereitung für Versuche
 - 2.2. Experimentelle Prozeduren
 - 2.2.1. Diabetes-Induktion
 - 2.2.2. Schein-Operation an gesunden und diabetischen Tieren
 - 2.2.3. Transplantation ohne Okklusion bzw. mit Ligatur
 - 2.2.4. Transplantation mit Okklusion
 - 2.3. Langfristige Beobachtung während Diabetes bzw. nach Transplantation
 - 2.3.1. Körpergewicht, basale Glucose und Hormone während eines Jahres nach Transplantation
 - 2.3.2. Intravenöse Glucosetoleranz und Sekretionsdynamik von Insulin ein Jahr nach Transplantation
3. Analysen
4. Berechnungen und Statistik
5. Ergebnisse
 - 5.1. Körpergewicht
 - 5.2. Basale Glucose, Insulin und Glucagon bis zu 9 Monaten nach Transplantation
 - 5.3. Glucosetoleranz und Insulinsekretion, K_g -Werte, ein Jahr nach Transplantation
6. Diskussion
7. Zusammenfassung
8. Literaturverzeichnis
9. Lebenslauf



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. Einleitung

Neben der Transplantation von pankreatischen Inseln ist die Transplantation von vaskularisierten Pankreassegmenten (PTP) eine weitere potentielle Möglichkeit in der Therapie des juvenilen Diabetes mellitus. Der praktischen Anwendung beider Verfahren steht trotz weitgehender Beherrschung der technischen Durchführung die noch nicht optimal beherrschte immunologische Schranke im Wege. Beim Menschen stehen derzeit verschiedene Transplantationsmodelle nebeneinander (1), deren Langzeitfunktion aufgrund der geringen Fallzahlen und der geringen Überlebensdauer der Transplantate nicht eindeutig beurteilt werden kann. Deshalb werden bei tierexperimentellen Pankreastretransplantationen diese in der Humanmedizin diskutierten Fälle nachgeahmt. Es sind dies die en bloc Transplantation von Pankreas und Duodenum mit erhaltener exokriner Drainage, die Duktligatur im Transplantat sowie die Okklusionstechniken mit verschiedenen Materialien (Neopren, Ethibloc).

Ziel dieser Untersuchungen, war zu prüfen, welche Art der Behandlung des Transplantats langfristig die beste endokrine Funktion erhält.



2. Material und Methoden

2.1. Versuchstiere, Haltung und Vorbereitung für Versuche

Die Untersuchungen wurden an männlichen Lewis-Ratten (mittels Hauttransplantation auf Histokompatibilität geprüfter Inzucht-Stamm der Firma Ivanovas, Kisslegg, Allgäu) durchgeführt. Zwischen Ankunft der Tiere und Versuchsbeginn (Diabetes-Induktion) lag eine Eingewöhnungsperiode von ca. einer Woche in einem klimatisierten Haltungsraum mit konstanter Temperatur ($22 - 24^{\circ}\text{C}$) und konstantem 12-stündigem Tag-Nacht-Rhythmus, in dem sich die Tiere auch während des gesamten Versuchszeitraumes befanden. Gefüttert wurden die Tiere mit Ratten-Standard-Diät (No. 1324, Altromin; Lage) und Leitungswasser ad libitum. Zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns betrug das Gewicht der Tiere ca. 210 - 350 g. Für eine ausreichende Narkose erhielten die Ratten Pentobarbital-Natrium (Nembutal, Abbott, Ingelheim) intraperitoneal in einer Dosierung von 0.1 ml/100 g Körpergewicht, entsprechend 60 mg/kg Körpergewicht bei 1) Operation zur Entnahme des Spenderpankreas; 2) der Schein-Operation; 3) dem intravenösen Glucosetoleranztest (siehe unten). Die Empfänger-Operation, die Streptozotocin- bzw. Vehikel-Injektion, das Freilegen und Punktieren der V. femoralis (siehe unten) erfolgten in kurzer oder protrahierter Äthernarkose.

Vor jeder Operation wurden die Tiere in Narkose im Bereich des jeweiligen Operationsfeldes großflächig rasiert, auf einem Operationstisch (Braun; Melsungen) in Rückenlage fixiert und die Haut mit Kodan desinfiziert.

2.2. Experimentelle Prozeduren

2.2.1 Diabetes-Induktion (n = 90)

Mit Ausnahme der später schein-operierten gesunden Gruppe (= Kontrollen) erhielten alle Tiere im gefütterten Zustand Streptozotocin (Upjohn Inc. Kalamazoo, Michigan, USA; 100 mg Streptozotocin in 1 ml Citratpuffer, 0.1 mol/l, pH: 4.5 - 4.8) in einer Dosierung von 55 mg/kg Körpergewicht in die Penisvene injiziert. Die Kontrollen erhielten in der gleichen Dosierung das Vehikel (Citratpuffer). Der Erfolg der Diabetes-Induktion wurde jeweils am dritten und siebten Tag nach der Streptozotocingabe am nüchternen Tier überprüft. Dazu wurde aus der Schwanzvene mit einer Glaskapillare 50 μ l Blut entnommen und mittels der Hexokinase-Methode (siehe Analysen) die Blutglucose bestimmt. Nur Tiere, die über 200 mg/dl hatten wurden als diabetische Tiere in die Versuche übernommen.

Parallel dazu wurde der Gewichtsverlust als klinisches Zeichen des Diabetes registriert. Diabetische Tiere wurden zwischen dem achten und sechzehnten Tag nach Streptozotocingabe als Transplantatempfänger verwendet bzw. schein-operiert.

2.2.2. Schein-Operation an gesunden (n = 10) und diabetischen (n = 15) Tieren

Diese Tiere wurden nüchtern in Nembutalnarkose durch einen am Xyphoid beginnenden 5 cm langen Schnitt median laparotomiert, das Dünn- und Dickdarm-Konvolut zwischen feuchten Tüchern nach links außen verlagert und

die infrarenale Aorta und V. cava freipräpariert. Der Situs wurde ca. 40 Minuten offen gehalten und dabei aus der V. cava bei -2, 5, 10 und 30 Minuten Blut entnommen (Einzelheiten siehe 2.3.2.) und verworfen. Anschließend wurden die Eingeweide reponiert und das Abdomen zweischichtig verschlossen. Je nach Blutverlust wurden dann noch 1 - 2 ml physiologische Kochsalzlösung in die Penisvene injiziert.

2.2.3. Transplantation ohne Okklusion (n = 3) bzw. mit Ligatur (n = 3)

Die Laparotomie gesunder Tiere erfolgte in Nembutalnarkose wie in 2.2.2. beschrieben. Die arterielle Versorgung des Spenderpankreas wird über ein Aorten-segment mit *Tripus Halleri* (*A. gastrica sinistra* und *A. hepatica propria* wurden ligiert und abgesetzt) und *A. mesenterica superior* sichergestellt. Der venöse Abfluß geschieht über die V. portae, die zusammen mit dem Duktus choledochus lebernah abgesetzt wurde. Bei der einen Untergruppe wurde der Duktus biliodigestivus mit einer duodenumnahen Ligatur verschlossen (Ligatur-Tiere; n = 3) und das Duodenum vollständig abpräpariert. Bei der anderen Untergruppe wurde der Duktus biliodigestivus mit einer duodenumnahen Ligatur verschlossen (Ligatur-Tiere; n = 3) und das Duodenum vollständig abpräpariert. Bei der anderen Untergruppe mit erhaltener Drainage des Duktus biliodigestivus (Freie Dukt-Drainage; n = 3) wurde das Duodenum mittransplantiert.

2.2.4. Transplantation mit Okklusion (n = 15)

Bei diesen Tieren wurde zusätzlich der Duktus biliodigestivus papillennah freipräpariert und eine stumpfe

Kanüle No. 18 eingeführt. Die Ausspritzung des Pankreasgangsystems erfolgte mit Ethibloc (alkoholisches Prolamin-Gel, Ethicon, Hamburg, n = 8) bzw. mit Neopren (alkalische Polychloropren-Lösung, Du Pont, Wilmington, Delaware, USA, n = 7). Anschließend wurde das Duodenum unter Ligatur der kleinen duodeno-pankreatischen Gefäße abpräpariert. Die folgende Abbildung 1 zeigt schematisch den Operations-situs nach erfolgter Transplantation.

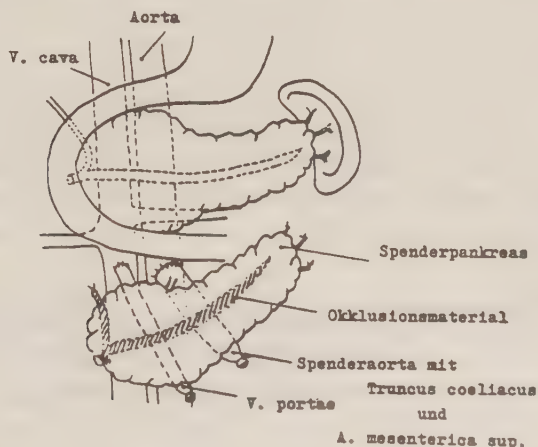


Abb. 1: Darstellung des Transplantats in situ mit den Anastomosen

Weitere Maßnahmen bei der PTP:

Nach Durchspülen des Präparates in situ mit kalter Kochsalzlösung wurde es bis zum Wiederanschluß an die Blutgefäße in 4 °C kalter Kochsalzlösung gelagert. Die kalte Ischämiezeit betrug ca. 30 Minuten. Aorto-aortale und porto-cavale Anastomose wurden bei dem diabetischen Empfängertier infrarenal in gleicher Höhe mit einer fortlaufenden Naht (8 x 0 Ethilon) angelegt.

Die End-zu-Seit-Anastomose zwischen Spender- und Empfänger duodenum erfolgte mit einreihiger Einzelknopf-Technik (6 x 0 Prolene).

2.3. Langfristige Beobachtung während Diabetes bzw. nach Transplantation

Einen Überblick über die zeitliche Staffelung der Untersuchungszeitpunkte während des Beobachtungszeitraumes von einem Jahr gibt Tabelle 1.

	Wochen nach Streptozotocin bzw. Vehikel		Monate postoperativ				
	0 ¹⁾	1	1	3	6	9	12
Körpergewicht	x	x	x	x	x	x	x
Basalwerte von Glucose, Insulin und Glucagon				x	x	x	
iv. Glucosetoleranz						x ²⁾	x
	1) ca. eine Stunde vor Injektion von Streptozotocin						
	2) nur schein-operierte, diabetische Gruppe						

Tabelle 1 : Übersicht zu den Untersuchungszeitpunkten während eines Jahres (x)

Die transplantierten Tiere und die Kontrollen wurden 12 Monate beobachtet. Da die schein-operierte diabetische Gruppe eine hohe spontane Mortalitätsrate aufwies, konnte diese Gruppe nur 9 Monate beobachtet werden.

2.3.1. Körpergewicht, basale Glucose und Hormone während eines Jahres nach Transplantation

Das Körpergewicht wurde im ersten postoperativen Monat wöchentlich, im weiteren Verlauf monatlich gemessen.

Nach 3,6 und 9 Monaten wurde jeweils um ca. 18.00 Uhr

bei der nicht-nüchternen Ratte in Ätherkurznarkose die V. femoralis wechselseitig freigelegt und mit einer Insulinspritze (Kanüle No. 18) Blut entnommen (0.1 ml EDTA/Trasylo1-Gemisch im Verhältnis 1:9 wurde mit 0.9 ml Blut vermischt). Plasma wurde bei 4 °C gewonnen und bei -30 °C gelagert.

2.3.2 Intravenöse Glucosetoleranz und Sekretionsdynamik von Insulin ein Jahr nach Transplantation

Am Ende des Beobachtungszeitraumes, d. h. 12 Monate postoperativ (Kontrollen; PTP) bzw. 9 Monate postoperativ (diabetische Gruppe), wurde an allen Tieren im nüchternen Zustand ein intravenöser Funktionstest zur Bestimmung der Glucosetoleranz und der Sekretionsdynamik von Insulin in folgender Weise durchgeführt:

Nach Laparotomie in Nembutalnarkose (siehe 2.2.2.) wurden Blutabnahmen bei -2, 5, 10, 20, 40 und 60 Minuten durchgeführt. Sie erfolgten wie die Glucoseinjektion (Dosis: 0.35 g/250 g Körpergewicht, als 50 %-ige Lösung) durch Punktion der subhepatischen V. cava mittels einer Insulinspritze (Kanüle No. 18), wobei zu 0.07 ml EDTA/Trasylo1-Gemisch 0.63 ml Blut aufgezogen wurde. Die Blutstillung erfolgte durch Kompression mit einem Wattetupfer. Die Insulinspritzen wurden kopfoben bei 4 °C und 3000 rpm ca. 5 Minuten zentrifugiert, das Plasma über eine gekrümmte Injektionsnadel in vorgekühlte Eppendorf-Röhrchen entleert und diese bei -30 °C gelagert.

3. Analysen

Glucose wurde entweder mit der Hexokinase-Methode gemessen (Bewertung der Diabetes-Induktion) oder mittels Glucoseoxidase (Beckman Gluco-Analyzer; in Plasma-Proben während der langfristigen Beobachtung). Radioimmunologisch gemessen wurde Insulin (Kaninchen-Antikörper-Codenummer RD 10, Wellcome, Beckenham), unter Verwendung von Ratten-Standard (Novo, Kopenhagen) als Tracer, und Glucagon mittels eines Dysäquilibrium-Assay, modifiziert nach Aquilar-Parade (2), Antikörper 30 K (Dallas Diabetes Foundation) in einer Endverdünnung von 1 : 50 000.

4. Berechnungen und Statistik

Die Verschwindensrate von Glucose aus dem peripheren Venenblut (= K_g -Wert) wurde nach der Glucoseexzess-Methode von MEHNERT und FÜRSTER (3), integrierte Glucose und Insulin nach der Methode der Trapez-Flächen-Summe berechnet. Insulin und Glucagon werden außer als Absolutwerte auch als molares Verhältnis wiedergegeben. Dieses reflektiert die hepatische Glucoseproduktion unter der Annahme, daß die Konzentrationen beider Hormone im peripheren Blut grob ihr Verhältnis zueinander im Blut der Pfortader widerspiegeln (4). Das molare Verhältnis wurde definitionsgemäß wie folgt errechnet:

$$\frac{\text{Insulin; uU/ml}}{\text{Glucagon; pg/ml}} \times 23.33 = \text{molares Verhältnis von Insulin zu Glucagon (I/G)}$$

Die Daten zum Körpergewicht folgen einer Normalverteilung und werden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung (SD) angegeben. Alle übrigen Daten sind nicht-normalverteilt und werden durch Median und Bereich dargestellt.

Basale Glucose, basales Insulin und Glucagon entwickelten sich in den einzelnen Gruppen in Abhängigkeit von der Versuchsdauer nicht unterschiedlich. Wegen der in mehreren Gruppen nur kleinen Anzahl überlebender Tiere (III-V) wurden alle Beobachtungen innerhalb einer Gruppe gepoolt.

Die gesamte Varianz aller (normal- und nicht-normalverteilter) Daten von Körpergewicht, basale Glucose, basales Insulin, basales Glucagon, I/G, K_g -Wert, integrierte Glucose und integriertes Insulin wurde mittels H-Test nach KRUSKAL-WALLIS (5) geprüft, Unterschiede gegenüber Kontrollen mittels U-Test nach WILCOXON (6), wobei $p < 0.05$ als signifikant betrachtet wurde.

5. Ergebnisse

5.1. Körpergewicht (Tabelle 2)

Eine Woche nach Streptozotocin-Injektion hatten alle Tiere einen durchschnittlichen Gewichtsverlust von ca. 15 % gegenüber dem Ausgangsgewicht, wohingegen die Kontrollen in der gleichen Zeit etwa 3 % an Gewicht zunahmen. Die schein-operierten diabetischen Tiere verloren im weiteren Verlauf bis zu 30 % ihres Ausgangsgewichtes und blieben auf diesem Niveau bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes. Nach Transplantation, aber auch bei schein-operierten Kontrollen, erfolgte eine stetige Gewichtszunahme (50 - 60 % oberhalb des Ausgangsgewichtes) bis zu einem Jahr. Das Körpergewicht innerhalb der transplantierten Gruppen III, IV, V unterscheidet sich nicht signifikant.

Das genaue prozentuale Gewichtsverhalten im Beobachtungszeitraum in den einzelnen Gruppen zeigt Abbildung 2.

5.2. Basale Glucose, Insulin und Glucagon bis zu 9 Monaten nach PTP (Tabelle 3)

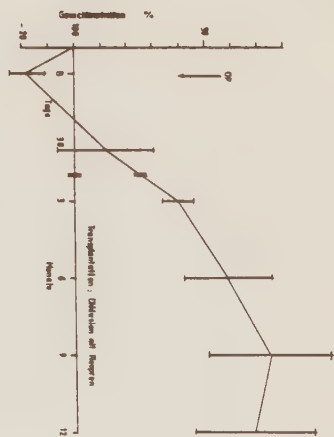
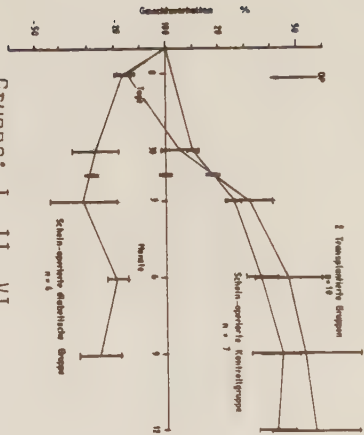
Alle Glucose- und Insulinwerte in dieser Tabelle sind höher als für die Spezies Ratte und die gewählten Bedingungen dokumentiert ist. Als verantwortliche Faktoren kann man den Einfluß der Äthernarkose betrachten, welche einen anerkannten Stimulus für Glykogenmobilisation in der Leber darstellt (7), sowie das Alter der Tiere (bis zu einem Jahr), dessen Einfluss auf diese Interaktionen bisher wenig bekannt ist.

Die basale Glucose der schein-operierten diabetischen Ratten ist stark erhöht gegenüber jener der Kontrollen und der transplantierten Gruppen, deren Glucose sich nicht unterscheidet. Basales Insulin bei schein-operierten diabetischen Tieren ist extrem niedrig,

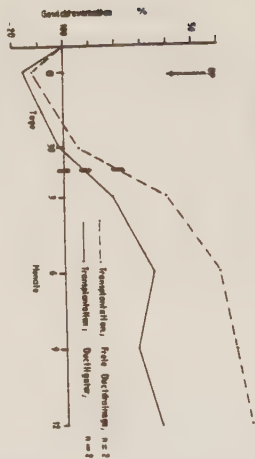
	0 (Versuchsbeginn)	1 Woche nach Strepto- zotocin bzw. Vehikel	1 Jahr postoperativ (Versuchsende)
I. Kontrollen (schem-operiert)	305 $\pm$ 17 (10) 290 - 320	314 $\pm$ 18 (10) 270 - 330	441 $\pm$ 33 (9) 410 - 485
II. Schem-operiert + Diabetes ¹⁾	286 $\pm$ 36 (15) 240 - 350	239 $\pm$ 31 (15) 210 - 295	211 $\pm$ 15 ^a (4) 180 - 230
III. Diabetes + Transplantation; Neopren	259 $\pm$ 46 (7) 210 - 320	214 $\pm$ 55 ^a (7) 150 - 275	423 $\pm$ 25 (3) 400 - 450
IV. Diabetes + Transplantation; Ethibloc	266 $\pm$ 30 (8) 220 - 310	224 $\pm$ 22 ^a (8) 180 - 250	412 $\pm$ 28 (4) 370 - 430
V. Diabetes + Transplantation; ohne Okklusion	306 $\pm$ 37 (6) 295 - 340	262 $\pm$ 26 ^a (6) 235 - 295	474 $\pm$ 43 (5) 410 - 530
VI. Σ III - V; Diabetes + Transplantation	275 $\pm$ 41 (21) 210 - 340	231 $\pm$ 40 (21) 150 - 295	441 $\pm$ 44 (12) 370 - 530

^a : $p < 0.05$ versus Kontrollen

Tabelle 2 : Körpergewicht bei Versuchsbeginn, 1 Woche nach Diabetes-Induktion sowie am Versuchsende, d. h. nach 12, bzw. bei diabetischen Tieren¹⁾ nach 9 Monaten. Mittelwerte $\pm$ 50 () : Anzahl der Beobachtungen; zusätzlich ist der Bereich der Einzelwerte angegeben. Weitere Einzelheiten siehe Tabelle 1.



Gruppe: III



Gruppe: IV

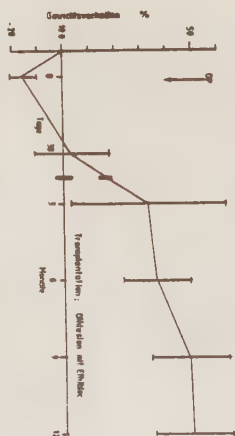


Abbildung 2: Relatives Verhalten des Körpergewichtes in Prozent des Ausgangsgewichtes in den einzelnen Gruppen; jeweils Mittelwert + Standardabweichung;

	Glucose mg/dl	Insulin uU/ml	Glucagon pg/ml	Insulin Glucagon ¹⁾
I. Kontrollen (scheln-operiert)	148/122-212 (29)	84/33-181 (29)	139/ 59- 640 (17)	13.6/2.9-57.8 (17)
II. Scheln-operiert + Diabetes	498/460-570 ^a (8)	5/ 2- 23 ^a (8)	417/278-1130 ^a (8)	0.4/0.1- 5.8 ^a (8)
III. Diabetes + Transplantation; Neofren	133/120-176 (12)	80/67-188 (12)	296/ 90-2000 (11)	6.2/1.1-17.4 ^a (11)
IV. Diabetes + Transplantation; Ethibloc	150/104-186 (12)	66/17-210 (12)	212/ 62- 330 (11)	7.5/5.3-15.0 (11)
V. Diabetes + Transplantation; ohne Okklusion	146/122-166 (17)	81/16-176 (17)	222/ 75- 550 (16)	9.9/2.8-54.7 (16)
VI. Σ III - V; Diabetes + Transplantation	144/104-186 (41)	78/16-210 (41)	230/ 62-2000 (38)	7.4/1.1-54.7 (38)

^a : $p < 0.05$ versus Kontrollen

¹⁾ : Einzelheiten siehe " Berechnungen "

Tabelle 3 : Basalwerte von Glucose, Insulin und Glucagon bei Tieren in Äthernarkose.
Median/Bereich () : Summe der Einzelbeobachtungen während 9 Monaten

jenes der Transplantierten ist nicht von den Kontrollen oder innerhalb der Gruppen III, IV, V verschieden. Basales Glucagon der schein-operierten diabetischen Gruppe ist signifikant erhöht gegenüber den Kontrollen. Medianes Glucagon nach Transplantation (Gruppen III - V) ist zwar noch höher als bei den Kontrollen, aber die Differenz ist nicht signifikant. Relativ betrachtet ist Glucagon in der Gruppe mit Ethibloc-Okklusion des Ganges am niedrigsten. Der I/G-Quotient (Normalbereich: 2.5 - 10) der Kontrollen ist im anabolen Bereich, jener der schein-operierten diabetischen Tiere extrem niedrig, wie für Diabetes beschrieben (8). Nach Transplantation erreicht der Quotient ca. 50 Prozent des Wertes von Kontrolltieren, ausgenommen die Gruppe mit Neopren-Okklusion des Ganges, in welcher ein signifikant niedriger Wert beobachtet wurde.

5.3 Glucosetoleranz und Insulinsekretion, K_g -Werte, integrierte Glucose und integriertes Insulin ein Jahr nach PTP (Tabelle 4)

Die Dynamik der Konzentration von Blut-Glucose bei den einzelnen Versuchsgruppen ist in Abbildung 3 dargestellt. Während diabetische Tiere über die ganze Testdauer stark hyperglykämisch bleiben, haben alle Tiere der Transplantationsgruppen (III, IV, V) die Tendenz zur Normalisierung der Hyperglykämie. Wegen dieser Beobachtung und den nur minimalen Unterschieden der Glucosetoleranz unter den Tieren wurden die Glucose-Verläufe nach den verschiedenen Prozeduren (Ethibloc, Neopren, Ligatur, Freie Duktrainage) gepoolt und als eine Gruppe "Transplantation" dargestellt. Der Glucoseverlauf in dieser, ist von jenem der Kontrollen nicht signifikant verschieden.

	K _g	Integrierte Glucose ¹⁾	Integriertes Insulin ²⁾
I. Kontrollen (schuin-operiert)	1.28/0.77-3.10 (7)	15.99/12.38-22.09 (7)	0.68/-6.51-3.85 (7)
II. Schein-operiert + Diabetes ³⁾	0.60/0.24-0.91 ^a (4)	18.87/11.91-19.51 (4)	0.00/ 0.00-0.00 ^a (4)
III. Diabetes + Transplantation; Neopren	1.) 1.59 2.) 1.27 3.) 1.69	1.) 15.43 2.) 16.08 3.) 19.32	1.) 1.40 2.) 4.89 3.) 11.51
IV. Diabetes + Transplantation; Ethibloc	1.) 0.89 2.) 0.88 3.) 0.76	1.) 19.85 2.) 19.34 3.) 25.88	1.) 4.54 2.) 4.04 3.) -2.09
V. Diabetes + Transplantation; ohne Okklusion	0.79/0.24-1.14 (4)	19.09/18.05-23.71 (4)	1.99/ 0.92-2.79 (4)
VI. Σ III - V; Diabetes + Transplantation	0.89/0.24-1.69 (10)	19.33/15.43-25.88 (10)	2.46/-2.09-11.51 (10)

^a : p < 0.05 versus Kontrollen

1) Fläche oberhalb des Ausgangswertes vor Glucose-
Injektion; mg/ml x min

2) wie 1); mU/ml x min

Tabelle 4 : Versuchswindenstrate (K_g) von Glucose aus dem peripheren Venenblut nach intravenöser
Glucosegabe bei Tieren in Numbutalnarcose, integrierte Glucose und integriertes
Insulin 12 bzw. 93) Monate postoperativ. Die Daten sind Median/Bereich bzw.
Einzelwerte bei III und IV; () : Anzahl der Beobachtungen

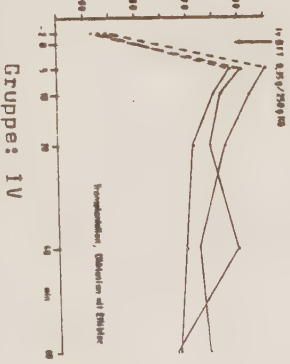
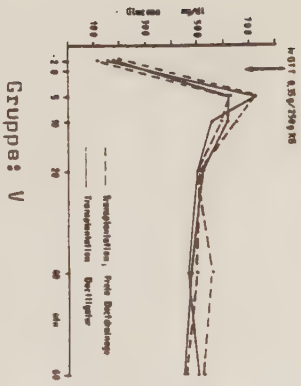
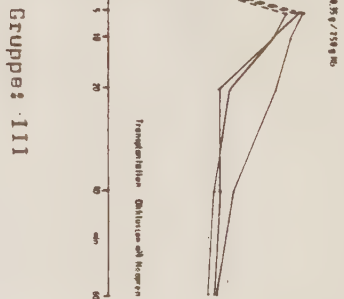
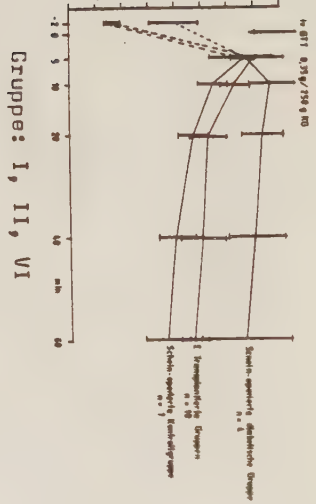


Abbildung 3: Verlauf des intravenösen Glucosetoleranztest am Ende des Beobachtungszeitraumes; jeweils Mittelwert $\pm$ Standardabweichung bei Gruppe I, II, VI, sonst Einzelverläufe

Die Dynamik der Sekretion von Insulin in den Gruppen wie für Glucose geschildert, ist in Abbildung 4 dargestellt. Bei diabetischen Tieren ist das mittlere Insulin auch während hoher Blut-Glucose nicht von Null verschieden. Nach Transplantation und Gang-Okklusion mittels Neopren und Ethibloc wird jeweils bei einem von 3 Tieren eine extreme Insulinämie zu den Zeitpunkten 40 (Neopren) bzw. 20 (Ethibloc) Minuten beobachtet. Als Ganzes betrachtet erscheint die Insulinämie nach intraduktaler Okklusion höher als ohne Okklusion (Freie Dukdrainage, Duktligatur). Bei diesen letzteren fehlt das Phänomen eines extrem hohen Insulins bei starker Hyperglykämie infolge intravenöser Glucosegabe. Wird das Insulin aller transplantierten Tiere gepoolt, resultiert ein verglichen mit den Kontrollen höheres mittleres Insulin (nicht signifikant).

Die Verschwindensrate von Glucose aus dem Blut (K_g -Wert) ist erniedrigt bei Diabetes, nicht signifikant erniedrigt gegenüber den Kontrollen nach Transplantation, wenn alle transplantierten Tiere gepoolt wurden. Umgekehrt ist die integrierte Glucose sowohl bei den diabetischen als auch bei den transplantierten Tieren höher als bei den Kontrolltieren, jedoch ist der Unterschied nicht signifikant. Die integrierte Insulinfreisetzung bei Diabetes ist verschwindend gering. Erheblich höher als bei den Kontrollen liegt sie nach Transplantation (gepoolte Daten). Wegen der extremen Streuung des Insulins einzelner Tiere (siehe oben) ist der Unterschied nicht signifikant.

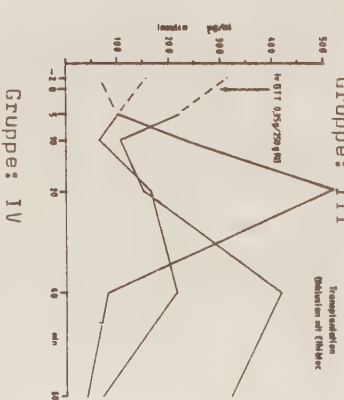
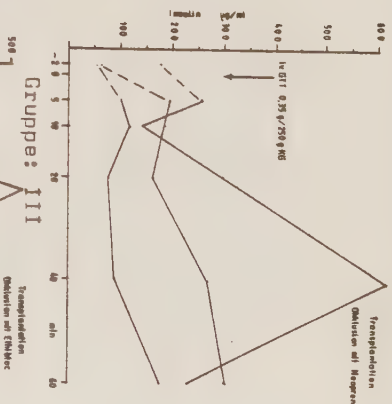
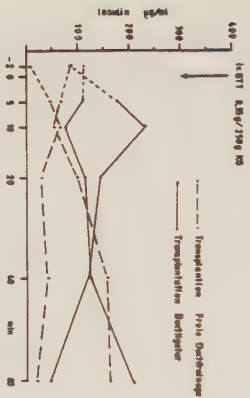
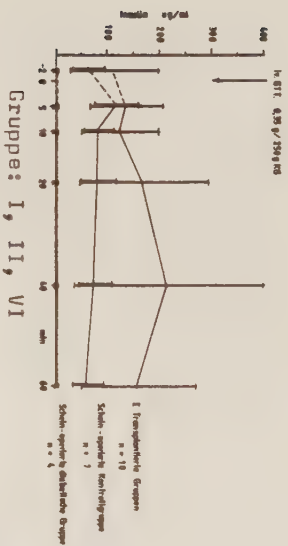


Abbildung 4: Verlauf der Insulinsekretion während intravenöser Glucosebelastung am Ende des Beobachtungszeitraumes; jeweils Mittelwert $\pm$ Standardabweichung bei Gruppe I, II, VI, sonst Einzelverläufe;

6. Diskussion

Seit Einführung des Insulins in die Therapie der Zuckerkrankheit ist die Lebenserwartung der juvenilen Diabetiker wesentlich gestiegen. Starben sie früher an Stoffwechselentgleisungen und interkurrenten Infekten bereits in jugendlichem Alter, so sind es jetzt die vaskulären Spätkomplikationen im 3. und 4. Dezenium, die das Schicksal dieser Kranken bestimmen.

Nach heute allgemein gültiger Auffassung ist die diabetische Mikroangiopathie vom Ausmaß und der Dauer der Hyperglykämie abhängig. Die ein- oder mehrfache tägliche Gabe von längerwirkenden Insulinen scheint ein Fortschreiten der Gefäßprozesse wohl verzögern, nicht jedoch verhindern zu können. Man suchte deshalb nach Wegen, die eine physiologischere Glucoseregulation beim juvenilen Diabetiker garantieren.

Derzeit sind Insulinpumpen in der ersten klinischen Anwendung, die eine genau vorprogrammierte, den täglichen Blutzuckerschwankungen angepaßte Insulinsekretionskinetik haben. Ob damit langfristig die vaskulären Probleme des juvenilen Diabetikers gelöst werden können, steht noch zur Diskussion.

Es bahnen sich Entwicklungen an, bei denen mittels Sensoren die Blutzuckerspiegel gemessen und entsprechende Insulin- und Glucagonmengen nach aktuellen Blutzuckerwerten ans Blut abgegeben werden. Eine Alltagstauglichkeit dieser künstlichen Pankreata muß sich erst noch erweisen.

Alternativ zu diesen exogenen "Betazellen" wird in Experiment und Klinik die Transplantation von Pankreasgewebe in Form isolierter Inseln oder kleiner Pankreasfragmente oder aber als gesamtes Organ erforscht. Die

ersten durchgeführten humanen Pankreasorgantransplantation, die durchaus langfristig gute endokrine Funktion zeigten, scheiterten an Komplikationen, ausgehend vom exokrinen Teil der Drüse, wie Pankreasnekrosen und Pankreasfisteln.

Deshalb versuchte man dieses Problem durch die alleinige Transplantation von isolierten Inseln oder Pankreasmikrofragmenten zu umgehen (9).

Leider zeigte dieses im isologen Modell sehr erfolgreiche Vorgehen bei der allogenen Anwendung keine langfristig nachweisbare Funktion (10).

Die experimentellen und auch klinischen Forschungen tendieren deshalb wieder vermehrt zur Transplantation des gesamten Organs oder nur eines Organteiles in Form eines vaskularisierten Pankreasschwanzes. Komplikationen von Seiten des exokrinen Anteiles der Drüse versuchte man dadurch zu umgehen, daß man einen ungehinderten Abfluß des Sekretes zum Ureter (11), in den Darm oder gar in die freie Bauchhöhle (12) schaffte. Die Ergebnisse waren wiederum nicht sehr überzeugend.

Erst das von DUBERNARD vorgeschlagene Konzept der Okklusion des Pankreasganges, um dadurch eine kontrollierte Atrophie des exokrinen Parenchyms zu erzeugen, bot überzeugende Ergebnisse, vor allem in der perioperativen Periode. Als Okklusionsmaterialien werden derzeit verschiedene Kunststoffe verwendet: Neopren (13), Polyisoprene (14), Silikonkautschuk (15).

Trotz deutlicher Reduktion der postoperativen Frühkomplikationen blieb diesen Verfahren der Langzeiterfolg bisher versagt, da das intraduktale Material eine massive Sklerose hervorruft, wodurch in den meisten Fällen die endokrine Funktion sistierte.

Durch das in Erlangen bei der Behandlung der chronischen Pankreatitis sehr erfolgreiche Ethibloc als Okklusionsmaterial (16) erhofft man sich nun entscheidende Vorteile. Da dieses Material wohl den Sekretionsstop mit erwünschter nachfolgender exokriner Atrophie bewirkt, danach aber infolge seiner biologischen Zusammensetzung (alkoholische Aminosäurelösung) vom Organismus durch Phagozytose allmählich abgebaut werden kann, kommt es, im Gegensatz zu den nicht resorbierbaren Materialien zu keiner massiven Fremdkörperreaktion.

Da es bei den Okklusionstechniken bisher wenig gesicherte Langzeituntersuchungen im Zusammenhang mit der PTP gibt, sollte diese Arbeit im Tierversuch klären helfen, ob eine kontrollierte Atrophie des exokrinen Pankreas Rückwirkungen auf die endokrine Langzeitfunktion des Pankreastransplantates hat.

Wie dieser Versuch zeigt, kann die PTP, unabhängig von der angewandten Methode, die an sie gestellten Forderungen: Normalisierung der Glucose - nüchtern und unter Belastung - sowie eine weitgehende Reduzierung der diabetischen Hyperglucagonämie durchaus erfüllen. Die pankreastransplantierten diabetischen Ratten zeigen auch nach einem Jahr auf Glucosereiz eine adäquate Freisetzung von Insulin in die Blutbahn. Die geringe Zahl von Versuchstieren in den einzelnen Untergruppen lassen jedoch statistische Vergleiche nur mit einer gewissen Vorsicht zu.

Geht man davon aus, daß alle untersuchten Transplantationsmethoden grob gleiches endokrines Langzeitverhalten zeigen, so stellt Ethibloc als Okklusionsmaterial für die PTP aufgrund seiner Resorbierbarkeit die theoretisch beste Möglichkeit dar.

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung des Glucosemetabolismus und der beteiligten Inselzellhormone Glucagon und Insulin bei pankreastransplantierten diabetischen Ratten im Vergleich zu nur scheinoperierten normalen und diabetischen Tieren, wobei die derzeit klinisch angewandten Modalitäten - freie exokrine Drainage, Dukt-Ligatur und Dukt-Okklusion - zur Anwendung kamen. Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich dabei über ein Jahr. Dies entspricht mehr als der Hälfte eines durchschnittlichen Rattenlebens, so daß von echten Langzeitbeobachtungen gesprochen werden kann.

Auf der Basis dieser tierexperimentellen Arbeit sind folgende Aussagen zur PTP möglich:

1. Sowohl die im Verlauf gemessenen basalen Glucose Spiegel als auch das stimulierte Glucoseverhalten am Ende des Beobachtungszeitraumes zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen pankreastransplan-
tierter diabetischer und Kontrollgruppe. Damit erscheint die PTP als geeignete Therapieform, die diabetischen Spätschäden am Gefäßsystem beim juvenilen Diabetiker zu vermeiden, unter der Voraussetzung, daß die Hyperglykämie der wichtigste schädigende Faktor ist.
2. Die Basalwerte von Insulin aller transplantierten Tiere unterscheiden sich signifikant von den diabetischen Kontrollen, nicht jedoch von den normalen Kontrollen. Bei Stimulation dagegen zeigt sich, daß die beiden okkludierten Gruppen mit dem integrierten Insulin deutlich über denen mit erhaltener exokriner Drainage und Dukt-Ligatur liegen.

Dies kann man dahingehend bewerten, daß nach einem Jahr noch ausreichend stimulierbares endokrines Parenchym vorhanden ist, wobei die okkludierten Gruppen besser abzuschneiden scheinen als die übrigen Gruppen. Aufgrund der geringen Fallzahlen ist eine statistisch signifikante Aussage hierzu nicht möglich und sinnvoll. Die stimulierte Hyperinsulinämie beim pankreastransplantierten Tier wird bei allen Transplantationsmodellen beobachtet. Die alleinige Drainage des Transplantatblutes in den peripheren Kreislauf dürfte keine ausreichende Erklärung dafür sein. Diesem Punkt wird derzeit in den verschiedenen Laboratorien unter verschiedenen Versuchsanordnungen nachgegangen. Letztlich bewirkt jedoch diese stimulierte Hyperinsulinämie eine den Kontrolltieren analoge Glucoseregulation im Rahmen der intravenösen Glucosetoleranz.

3. Alle Transplantationsmodelle senken die für die diabetische Kontrollgruppe - wie auch für den humanen juvenilen Diabetes - charakteristische basale Hyperglucagonämie, die neben dem Insulinmangel für die exzessiven Glucose-entgleisungen verantwortlich gemacht wird.

7. Zusammenfassung

Für die Pankreasorgantransplantation bei streptozotocin-diabetischen Ratten lassen sich folgende Aussagen aufzeigen:

1. Mit Hilfe der PTP läßt sich der durch die Diabetes-Induktion (Streptozotocin) hervorgerufene Gewichtsverlust sowie andere Veränderungen (Polydipsie, Polyurie, Fellschäden) kompensieren; die pankreastransplantierte diabetische Gruppe unterscheidet sich nach einem Jahr nicht von den Kontrolltieren.
2. Die PTP kann bei diabetischen Tieren langfristig (Beobachtungszeitraum: ein Jahr) die Nüchtern-Blutzuckerspiegel normalisieren. Ebenso wird intravenös applizierte Glucose im Rahmen der intravenösen Glucosetoleranz wie bei der Normalkontrollgruppe aus der Blutbahn eliminiert.
3. Dieses Blutzuckerregulationsverhalten bei den pankreastransplantierten Tieren wird mittels normaler basaler, jedoch deutlich erhöhter stimulierter Insulinspiegel erreicht, deren Ursache im Rahmen dieser Versuchsanordnung nicht geklärt werden kann.
4. Die durch Streptozotocin induzierte Hyperglukonämie wird deutlich reduziert.

Somit kann die PTP bei der diabetischen Ratte, die an sie gestellte Forderung der Normalisierung der Blutzuckerspiegel, nüchtern und bei intravenöser Belastung langfristig erfüllen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Sutherland, D. E. R.: Pancreas and islet transplantation, II. Clinical trials. Diabetologica 20 (4), 435 - 450; 1981.
2. Aquilar-Parade, E.; Pancratic glucagon secretion in normal and diabetic subjects. Am J. Med. Sci. 257: 415 - 419; 1969.
3. Mehnert, H.; Stoffwechselkrankheiten, Thieme: Förster, H.: Stuttgart, 174 - 176; 1975.
4. Unger, R. H.: Glucagon: Molecular Physiology; In: Lefevre, P.; Unger, R. H.: Glucagon: Molecular Physiology, Clinical and Therapeutic Implications. Pergamon Press, Oxford, 1972.
5. Sachse, L.: Statistische Auswertungsmethoden, Springer: Berlin, 238 - 240; 1975.
6. Sachse, L.: Statistische Auswertungsmethoden, Springer: Berlin, 230 - 238; 1975
7. Eichler, J.: Kompendium der Anaesthesiologie, Fischer: Stuttgart, 45; 1974.
8. Unger, R. H.: Glucagon: Molecular Physiology; In: Lefevre, P.; Unger, R. H.: Glucagon: Molecular Physiology, Clinical and Therapeutic Implications. Pergamon Press, Oxford, 1972.

9. Largiadèr, F.: Farewell to pancreatic organ transplantation? Eur. Surg. Res. 9, 399; 1977.
10. Kolb, E.: Frühabstoßung von intraportalen und intralialenen Pankreas-Allo-transplantaten. Langenbecks Arch. Chir. (Suppl.) Chir. Forum 79, 349; 1979.
11. Gliedman M. et al.: Pancreatic duct to ureter anastomosis for exocrine drainage in pancreatic transplantation. Amer. J. Surg. 125, 245; 1973.
12. Sutherland, D. E. R.: Pancreas and islet transplantation. II. Clinical trials. Diabetologica 20 (4), 435 - 450; 1981.
13. Dubernard J. M. et al.: A new method of preparation of segmental pancreatic graft for transplantation. Trials in dogs and in man. Surgery 84, 633; 1978.
14. Mc Master P. et al.: Prolongation of canine pancreas allograft survival with cyclosporin. Brit. med. J. 280, 444; 1980.
15. Sutherland, D. E. R.: Pancreas and islet transplantation. II. Clinical trials Diabetologica 20 (4), 435 - 450; 1981.

LEBENS LAUF

Am 31. 12. 1954 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Walter Roder und dessen Ehefrau Margarete Roder in Nürnberg geboren. Nach 4 Jahren Volksschule trat ich 1965 in das Dürer-Gymnasium in Nürnberg über, wo ich 1974 das Abitur ablegte. Im Wintersemester 1974 nahm ich das Studium an der Friedrich-Alexander-Universität mit der Fächerverbindung Physik und Sport auf. Zum Sommersemester 1978 erhielt ich die Zulassung für das Studium der Humanmedizin in Erlangen. Im August 1979 absolvierte ich das Physikum und im Herbst 1983 möchte ich mein Studium mit dem Staatsexamen beenden.

Druck: Copy Center 2000
Obere Karlstraße 30
8520 Erlangen